BEITRÄGE
ZUR
VERGLEICHEND-CHEMISCHEN PHYSIOLOGIE
DER
MUSKELSUBSTANZ.

INAUGURAL-DISSERTATION
VERFASST UND DER
HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT
DER
KÖNIGL. JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU WÜRZBURG
ZUR
ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE
IN DER
MEDICIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHÜLFE
VORGELEGT VON

HENRY WAGNER,
DR. PHIL. AUS SAN FRANCISCO, CAL. U.S.A.

WÜRZBURG.
DRUCK DER THEIN'SCHEN DRUCKEREI (STÜRTZ).
1885.

Referent:

Herr Professor Dr. A. Fick.

Die erste eingehende Untersuchung der Muskelsubstanz rührt her von *Justus Liebig* aus dem Jahre 1847. Vorher war jedoch schon einigen Chemikern, wie *Chevreul*, *Schlossberger*, *Wöhler* und Anderen gelungen, einzelne Bestandtheile der sogenannten Fleischbrühe zu isoliren, so beschrieb *Chevreul* im Jahre 1835 einen neuen Körper unter dem Namen Kreatin, den er durch Behandlung des durch Abdampfen im luftleeren Raume erhaltenen Rückstandes der Fleischbrühe mit Alkohol allerdings in sehr geringer Menge erhalten hatte.

Vorliegende Arbeit soll nur einzelne Punkte der vergleichend-chemischen Physiologie der Muskelsubstanz beleuchten, nämlich ob und in welchem Verhältniss einzelne wichtige chemische Körper, wie z. B. das Carnin, in den verschiedenen Thierspecies präformirt vorkommen. Wir werden hierbei den chemischen Bau der contractilen Gewebe in folgenden Abtheilungen zu betrachten haben:

a) Eiweisskörper.

b) Krystallisirende organische Bestandtheile: sogenannte Extractivstoffe.

c) Kohlenhydrate.

d) Fette.

e) Wasser.

f) Anorganische Salze.

Eiweisskörper.

Das Muskelplasma der quergestreiften Muskeln, das Extractionsproduct des Sarcolemmainhaltes von schwach gelblicher Färbung und geringer Opalescenz, enthält die hier zur Besprechung kommenden Eiweissstoffe. *Kühne* stellt das Muskelplasma dar, indem er entblutete Muskeln auf — 10 °C. bis — 7 °C. abkühlt, im eiskalten Mörser zerreibt und diesen Brei durch Leinen auspresst; diese Flüssigkeit wird kalt filtrirt und bildet das meist alkalisch reagirende Muskelplasma. Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gerinnt das Muskelplasma und zwar ist der sich hierbei ausscheidende Eiweisskörper, das Myosin, es, welches die Todtenstarre der Muskeln bedingt; es bildet im Gegensatz zum Fibrin eine gallertartige Masse; die Gerinnungstemperatur desselben liegt bei 40 °C. Zusatz von vielem kalten Wasser, verdünnten Säuren, sowie 10—20procentige Kochsalzlösungen bewirken sofortige Gerinnung; das reine Myosin vermag sich aber in Lösungen von Kochsalz bis zu 10 % zu lösen, wodurch es die Eigenschaft verliert, spontan zu gerinnen und erst bei 60 °C. flockig ausfällt und zwar als verändertes Myosin, als ein Coagulat, wodurch es seine Löslichkeit für Na Cl-Lösung eingebüsst hat. Die Lösung des Myosins in verdünnten Säuren enthält das Umwandlungsproduct desselben, nämlich Syntonin, durch Neutralisation fällbar, und unterscheidet sich von dem ursprünglichen Myosin durch die Unlöslichkeit in Salzlösungen. Das Filtrat nach Ausfällung des Myosins wird Muskelserum genannt und enthält noch folgende Eiweisskörper: 1) das Muskelalbumin, bei 45 °C. fällbar und sich vom Myosin durch die Nichtlöslichkeit in Salzlösungen unterscheidend; 2) das Kalialbuminat, schon fällbar durch geringen Zusatz von Essigsäure; dieses und das Muskelalbumin bilden vorwiegend die Wärmestarre der Muskeln; 3) das

Serumalbumin kommt in bedeutender Menge vor, und ist der letzte ausfällbare Eiweisskörper, in den 60er Graden tritt Trübung ein, bei 75°C. vollständig flockiger Niederschlag. Die Eiweiskörper der glatten Muskeln sind bei der noch zur Zeit herrschenden geringen Kenntniss, die wir von ihrem Plasma besitzen, wenig bekannt. *Heidenhain* und *Hellwig* erhielten aus glatten Muskeln eine neutrale, schwach opalisirende Flüssigkeit, welche sich bei 45 bis 49°C. trübte und bei 58°C. Flocken ausfallen liess, wobei die Reaction der Flüssigkeit nicht deutlich sauer war. Auch über die Eiweissstoffe des contractilen Protoplasma's ist sehr wenig bekannt, es gerinnt zwischen 35 bis 50°C., wobei die Conctractilität verloren geht.

Extractivstoffe.

Die Extractivstoffe bilden sämmtlich krystallisirbare Körper; sie sind es, die am meisten bei Fleischflüssigkeitsuntersuchungen in Betracht gezogen wurden. Bevor wir zu den einzelnen Körpern übergehen, möchte ich hier den Gang der Fleischanalyse erwähnen, welchen ich bei allen meinen Untersuchungen eingeschlagen habe: fein zerhacktes Fleisch wird mit dem doppelten Volumen Wasser etwa 12 bis 16 Stunden lang macerirt. Vorher setzt man eine Spur von Thymol zu, um eine fäulnissartige Zersetzung zu vermeiden; sodann wird die Masse kurze Zeit auf 50°C. erwärmt, wobei die Extractivstoffe fast zur völligen Lösung gebracht werden. Nach Durchseihung dieser Flüssigkeitsmasse wird der übrig bleibende Fleischrückstand in einer starken Presse ausgepresst, damit kein Verlust eintritt. Bei neutraler oder alkalischer Reaction der Flüssigkeit wird mit Essigsäure schwach angesäuert und möglichst rasch erhitzt, da sonst leimartige Stoffe in Lösung übergehen und oft jegliche weitere Bearbeitung vollständig

hemmen, wie bei manchen Fischarten. Das coagulirte Eiweiss wird abgepresst und filtrirt. Die Phosphate, meist als phosphorsaure Alkalien vorhanden, werden gefällt durch die *Liebig*'sche Methode: mittels Barytwasser, wobei überschüssiges Bariumsalz durch Schwefelsäure abgeschieden wird oder durch Fällung mit Bleiacetat. Nach vielen Fleischuntersuchungen erwies sich die erstere Methode als die bessere, denn besonders bei Bearbeitung von Fisch- und Hummerfleisch war in Folge der feinsten Vertheilung des Bleiniederschlages das Filtriren unmöglich gemacht. Nach Ausfällung der phosphorsauren Salze werden einzelne Körper durch basisch essigsaures Blei kalt gefällt, z. B. Carnin, Inosit, ferner einige durch Abspaltung von Taurin sehr leicht zersetzliche Körper. Dieser Bleiniederschlag wird mit siedendem Wasser weiter behandelt, wobei die Bleiverbindungen des Carnins und einiger anderer Körper in Lösung gehen. Das Filtrat des Bleiacetatniederschlages wird auf Kreatin Hypoxanthin etc. verarbeitet.

Kreatin.

wird gewonnen durch Eindampfen des Filtrates vom Bleiniederschlage bei 60°C. bis zur Syrupconsistenz auf Verdauungskesseln. Synthetisch wurde es von *Volhard* dargestellt (Sitzungsber. d. bayer. Akad. 1868, Heft 3, pag. 472). Wir finden es vor in den quergestreiften Muskeln der Wirbelthiere, z. B. in den embryonalen Muskeln, in den Sceletmuskeln der Fische nach *Limpricht*; *Krukenberg* wies eine reichliche Menge im Karpfen und Barsch nach; sowie auch in den meergrünen Luvarusmuskeln.

Das Kreatin, sowie das weiter unten noch zu besprechende Kreatinin waren nicht in dem contractilen Gewebe irgend eines Wirbellosen aufzufinden, z. B. in den Krebsmuskeln, auch nicht im Plasmodium von Aethalium

septicum, ferner nicht im Mollusken und Würmerfleisch; auch im Muskelmagen körnerfressender Vögeln fehlt es. Grosses Interesse bietet Amphioxus lanceolatus, welcher in der Wirbelthierreihe am tiefsten steht, dadurch, dass er Kreatin enthält. Uebergehend zum

Kreatinin,

vermissen wir dasselbe dort, wo auch der soeben besprochene Körper nicht vorzufinden war, nämlich bei den Mollusken, Würmern, Krebsen und im Muskelmagen körnerfressender Vögeln. Man soll es jedoch präformirt vorfinden in manchem Fischfleische, so bei Fischen aus der Muräniden-, Labriden- und Scomberiden-Familie. Sehr reich an Kreatinin ist der Luvarus imperialis, während es beim Barsch und Karpfen gar nicht vorkommt. Nach den sorgfältigen Untersuchungen von *Neubauer* (Zeitschr. f. anal. Chem. II. 1865) entsteht das Kreatinen aber immer erst durch die chemischen Operationen aus Kreatin.

Hypoxanthin.

wurde zuerst von *Scherer* und *Strecker* in thierischen Geweben aufgefunden; es gehört zur Xanthingruppe, denn es lässt sich sowohl aus dem Xanthin, wie auch aus dem Carnin darstellen, die alle dieser Gruppe, der sogenannten Xanthingruppe, angehören und wohl immer Derivate des Nucleïns sind (*Kossel*). Das Vorkommen des Hypoxanthins ist ein weit verbreitetes. Es bildet farblose, sehr feine Nadeln, verbindet sich mit Basen, Säuren und Salzen zu bekannten Verbindungen. Sein Zersetzungspunkt liegt nicht, wie in einigen Lehrbüchern der physiologischen Chemie angegeben wird, bei 150 °C., denn selbst bei 260 °C. fängt es noch nicht an, eine Veränderung in seiner Farbe zu zeigen und sich zu zersetzen. *Strecker*

sagt in seiner Arbeit über das Hypoxanthin (Annalen der Chem. u. Pharm., Bd. 102, p. 204) wohl aus, dass es beim Erwärmen bis 150 °C. und höher unverändert bleibe, beim stärkeren Erhitzen, ohne zu schmelzen, Blausäure entwickele, und ein weisses, schwerflüchtiges Sublimat gebe, während ein verkohlter Rückstand bleibe, welchen Vorgang derselbe wohl bei einer höheren Temperatur, als 260 °C. erhalten haben muss. Das Hypoxanthin findet sich im Plasmodium von Aethalium sept. nur in Spuren vor; bei den Würmern und Krebsen finden wir es nicht vor, nur in Spuren im Fleische mancher Selachier, in grosser Menge jedoch im Muskelmagen körnerfressender Vögel, im Karpfenfleische, in den embryonalen Muskeln, sowie in den contractilen Geweben der Wirbellosen (Homasus vulg., Athea cerus). Ein dem Hypoxanthin sehr nahe verwandter Körper ist das

Carnin.

Dasselbe war von *Weidel* (Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. 158. 1871 p. 353) im Fleischextracte aufgefunden worden. Wie schon oben erwähnt, gehört es der Xanthingruppe an. Um die Verbreitung dieses Körpers im Thierreiche näher kennen zu lernen, war es vor Allem nothwendig, sämmtliche Eigenschaften desselben zu studiren; einige derselben hatte *Weidel* schon genauer untersucht. In einer kurzen Notiz (z. Kenntniss des Carnins v. *Krukenberg* und *Wagner* in den Sitzungsber. der Würzburger physikal.-med. Gesellsch. 1883) waren die näheren Eigenschaften dieses Körpers mitgetheilt. Das Carnin war bis zu 2 Gramm in einem Pfund Fleischextract vorgefunden worden, jedoch variirte die Menge sehr in den verschiedenen Sorten. Rein dargestellt stellt es eine grobkörnige, gelbe, mikrokrystallinische Masse dar. Der Zersetzungspunkt liegt zwischen

230° — 239° C, bei ersterer Temperatur fängt die Masse an, sich zu bräunen, bei letzterer tritt vollständige Verkohlung ein, wobei kurz zuvor eine geringe Sublimation stattfindet. Die chemische Formel für das Carnin ist:

$C_7 H_8 N_4 O_3 + H_2O$, nämlich:

C_7	43,53 % (gefunden)	42,80 % (berechnet)
H_8	4,56	4,00
N_4	28,88	28,56
O_3	(23,03)	24,64
1 Mol. Krystallwasser	8.37	8,41

Das Carnin bildet knollenförmige Gebilde von krystallinischem Baue, in kaltem Wasser etwas, mehr in heissem Wasser auflöslich. Salpetersaures Silber bringt einen weissen voluminösen Niederschlag in der Kälte hervor; während neutrales essigsaures Blei keinen Niederschlag verursacht, erhält man mit basisch essigsaurem Blei eine weisse Fällung, jedoch wird das Carnin nicht durch letzteres Reagens aus seinen Lösungen gefällt, sobald dieselben neutrales Bleiacetat enthalten. Beim Kochen mit essigsaurem Kupfer entsteht ein blaugrüner Niederschlag. Quecksilbersalze bringen einen weissen Niederschlag hervor. Bei Einwirkung von Brom auf das Carnin erhält man bromwasserstoffsaures Hypoxanthin in sternförmigen Krystallen, die nach längerem Stehen an der Luft eine ziegelrothe Farbe annehmen. Auch Salpetersäure vermag das Carnin in die betreffende Hypoxanthinverbindung überzuführen. Zur weiteren Charakteristik tragen auch seine Salze bei, so krystallisirt das salzsaure Salz in schönen, strahlenförmig angeordneten prismatischen Nadeln. Das betreffende Platinsalz hat eine prächtige Octaëderform. Das Carnin ist dem Hypoxanthin sehr nahe verwandt, da es leicht in letztere Verbindung übergeführt werden kann, wie wir oben erwähnten, und unterscheidet

sich ferner in seiner Formel nur durch $C_2 H_4 O_2$ = Essigsäure, nämlich: $C_7 H_8 N_4 O_3$ = Carnin

$C_5 H_4 N_4 O$ = Hypoxanthin.

Ich versuchte daher synthetisch das Hypoxanthin aus dem Carnin darzustellen, nämlich durch Einwirkung von Essigsäure in verschiedener Stärke auf Hypoxanthin; dasselbe löst sich fast gar nicht in kalter, besser in heisser Essigsäure; bei langsamer, wie auch bei schneller Krystallisation, die immer an den Rändern erfolgte, entstand ein Produkt, in welchem weder durch Eisenchlorid, noch durch die Kakodylprobe Essigsäure nachzuweisen war, welches aber seinem mikrokrystallinischem Gefüge nach nichts anderes als unverändertes Hypoxanthin war; somit stimme ich mit *Weidel*'s Meinung überein, dass wir es wohl nicht mit der essigsauren Verbindung des Hypoxanthins zu thun haben, sondern dass wahrscheinlich ein neues Glied der Xanthingruppe vor uns liegt. Nach *Weidel* soll neben Carnin kein Hypoxanthin im Fleischextracte vorhanden sein, jedoch war es mir möglich, eine grössere Menge von letzterem Körper neben ersterem nicht allein in der Muskelsubstanz, sondern auch im Liebig'schen Fleischextract nachzuweisen.

Der Carnin hat nicht eine solche Verbreitung im Thierreiche, wie das Kreatin und Hypoxanthin, wohl finden wir es vor in den Muskeln einiger Süsswasserfische (Barbarus fluv., Abramis br., und Leuciscus dob.). Im Aethalium sept. fehlte es. Bei Bearbeitung des Froschfleisches fand ich kein Carnin vor, wohl aber in geringer Menge einen neuen Körper, welcher auf dieselbe Weise gewonnen wird, wie das Carnin, wesshalb ich vorläufig denselben mit dem Namen: carninähnlicher Körper bezeichnen will. Derselbe krystallisirt in spitzen, viereckigen, rhombischen Tafeln, welche meist aggregirt entweder mit ihren Spitzen

nach oben gekehrt oder in astförmiger Gruppirung angeordnet vorkommen.

Die getrockneten Krystalle zeigen einen Zersetzungspunkt von 140° C mit geringer Sublimation. Die Löslichkeitsverhältnisse sind dieselben, wie beim Carnin und wie dem Carnin im reinen Zustande eine specifische gelbe Farbe zukommt, so besitzt auch dieser Körper eine ihm zukommende charakteristisch tombackbraune Farbe.

Aus der wässerigen Lösung wird es nun weder durch basisch noch durch neutrales Bleiacetat gefällt. Salpetersaures Silber und die anderen angewandten Reagentien geben dieselben Niederschläge, wie beim Carnin. Bei der Untersuchung des Alligatorfleisches auf Carnin wurde ein Körper vorgefunden, welcher sich durch seine rosettenförmig angeordneten Prismen charakterisirt; die Ausbeute war eine geringe und somit nur möglich gemacht, mit der gereinigten Substanz mehrere Schmelzpunktbestimmungen und Reactionen auszuführen. Der Zersetzungspunkt liegt über 290° C. Die essigsauren Bleisalze bewirken weisse flockige Fällung. Die Krystallformen des salzsauren und salpetersauren Salzes sind charakteristisch: ersteres stellt längliche Rhomben dar, letzteres viereckige Säulen.

Bei Bearbeitung von Hummerfleisch glaubte ich auf ähnliche Schwierigkeiten zu stossen, wie bei der von Fischen; die Filtrate sind nämlich dort stets milchig getrübt, was, wie schon oben bemerkt, durch aufgelöste leimartige Körper verursacht wurde. Hier aber fand ich es nicht vor, denn nach Abkochen des basisch essigsauren Bleiniederschlages hatte sich bald der Niederschlag zu Boden gesetzt und eine klare überstehende Flüssigkeit bot mir das weitere Untersuchungsmaterial dar.

Der hier aufgefundene Körper zeichnet sich besonders durch eine eigenthümliche Metamorphose einer Krystallisationsform aus: anfänglich erscheint derselbe in spitzendenden

Prismen, welche, in einander verflochten, nach zwei Seiten hin büschelförmig auseinander gehen. Nach kurzem Stehen, vielleicht in Folge einer Wasserzunahme, verwandeln sich diese Krystalle in sechsseitig flache Tafeln. Dieser Vorgang, den man sehr deutlich unter dem Microscope beobachten konnte, dauerte etwa 2 — 3 Minuten. Auch hier war die Ausbeute eine geringe, jedoch bedeutender als beim Frosch- und Alligatorfleische. Der Zersetzungspunkt liegt bei 245° C. Dieser Körper ist etwas löslich in kaltem Wasser, leicht in heissem; die Reactionen dieses Körpers verhalten sich ähnlich denen des Froschfleisches.

Da die Ausbeute dieser Körper eine sehr geringe ist, so war es mir nicht möglich, die Eigenschaften derselben näher kennen zu lernen, wesshalb ich meine Untersuchungen, nachdem ich das nöthige Material gesammelt habe, weiter fortsetzen werde.

Kohlenhydrate.

Der Inosit, sog. Muskelzucker wurde von *Scherer* zuerst im Herzmuskel entdeckt. Wir finden ihn vor in der quergestreiften Muskulatur der Säugethiere, auch in den embryonalen Muskeln des Rindsfoetus. Im Plasmodium von Aethalium sept., in den Würmermuskeln, sowie in den Muskeln der Krebse und Fische fehlt derselbe; auch die Schenkelmuskeln von Rana temporaria und esculenta erwiesen sich frei davon. Bei der Schwierigkeit des Nachweises kleiner Mengen von Inosit ist jedoch auf negative Resultate wohl nicht zu viel Werth zu legen. Das Glycogen hat im Vergleiche mit dem vorigen Körper eine weite Verbreitung im Thierreiche, so fanden *Bernhard* und *Kühne* es in allen embryonalen Muskeln, von *Bizzio* und *Chittenden* war es in den Mollusken nachgewiesen und von *Schwalbe* in den Würmermuskeln. Auch kommt es vor

in den Sceletmuskeln der Fische; ferner in dem contractilen Protoplasma der Myxomyceten.

Fette.

Was den Fettgehalt der einzelnen contractilen Gewebe anbetrifft, so wechselt derselbe in sehr weiten Grenzen und nicht allein vielleicht bei einer und derselben Thierklasse, sondern auch bei einem und demselben Thiere, was ich bei verschiedenen Thieren, wie z. B. beim Salm constatiren konnte.

Wasser.

In allen contractilen Geweben treffen wir Wasser an, doch ist der Gehalt desselben grossen individuellen Schwankungen unterworfen und einzelne Muskeln eines und desselben Leibes enthalten ungleiche Wassermengen. So fand ich beim Salm, dass die hellrothen Muskeln 62,06 $^0/_0$ H_2O, während die dunkleren nur 54,04 $^0/_0$ enthielten. Der Wassergehalt ist grösser bei wirbellosen und bei sehr jungen Thieren; *Schlossberger* machte zuerst die Beobachtung, dass die Muskeln eines jungen Thieres von Monat zu Monat am Wassergehalte abnehmen, ferner dass auch die leistungsfähigen Muskeln wasserärmer sind, was auch in unserem Falle bei den dunkleren, haemoglobinhaltigen Muskeln des Salms der Fall ist, die doch eine grössere Leistungsfähigkeit besitzen müssen, da sie sich in der Nähe der Flossen und am Schwanzende befinden.

Von den

anorganischen Salzen

finden wir besonders Phosphate und zwar vorwiegend phosphorsaures Kali vor, in geringerer Menge Kalk- und Magnesiaphosphate. Ausserdem finden sich immer Spuren von Eisen,

die wohl auf den geringen Hämoglobingehalt des Muskels kommen. Hervorzuheben ist noch, dass Chlornatrium nur in sehr geringen Mengen vorkommt, die wahrscheinlich zurückgebliebener Gewebsflüssigkeit (Lymphe oder Blut) angehören, so dass die eigentliche Muskelzelle ganz frei davon ist.

Schliesslich habe ich dankend zu erwähnen, dass mir die Mittel des hiesigen physiologischen Institutes zur Verfügung standen.